

## H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对盐胁迫下苜蓿种子萌发的影响

付 咪, 何林卫, 李鲜花, 李 强

(榆林学院 陕西省陕北矿区生态修复重点实验室, 榆林学院 生命科学学院, 陕西 榆林 719000)

**摘 要:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作为植物体内的一种活性氧, 广泛参与植物多种生命活动过程。以敖汉 (AH)、甘农三号 (GN3 号)、劳勃 (LB) 三个品种苜蓿为研究对象, 使用不同浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理种子模拟盐胁迫环境, 研究了不同浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸种预处理对 100mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 模拟盐胁迫下苜蓿种子萌发的影响。结果表明, 100 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫下, 苜蓿种子的发芽受到抑制; 在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度处于 0.05%~0.5% 之间时, 三个品种苜蓿种子的发芽率和发芽势均随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度升高而升高, 在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度处于 0.1% 时, 各品种发芽率和发芽势均最高, AH、GN 三号、LB 三个品种苜蓿发芽率和发芽势均最大, 发芽率分别为 90%、98%、95%, 发芽势分别为 72%、94%、86%, 当 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度超过 0.5% 时对盐胁迫下的苜蓿种子发芽率和发芽势均起到了抑制作用; 在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度处于 0.1%~0.5% 范围内, 会有效缓解盐胁迫带来的伤害从而促进种子萌发。

**关键词:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 盐胁迫; 苜蓿

**中图分类号:** S551+.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0488-5368(2021)11-0067-04

## Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Treatment on Alfalfa Seed Germination Under Salt Stress

FU Mi, HE Linwei, LI Xianhua, LI Qiang

(Key Laboratory of Ecological Restoration in Shanbei Mining Area of Shaanxi Province, Yulin University;  
College of Life Sciences of Yulin University, Yulin, Shaanxi 719000, China)

**Abstract:** As a kind of reactive oxygen species in plants, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is widely involved in a variety of plant life activities. With three alfalfa varieties of Aohan (AH), Gannong No. 3 (GN3) and Robert (LB) as the research objects, different concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were used to treat seeds in simulated salt stress environment. The effects of different concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> soaking pretreatment on seed germination of alfalfa under simulated salt stress of 100mmol · L<sup>-1</sup> NaCl were studied. The results showed that the germination of alfalfa seeds was inhibited under 100mmol · L<sup>-1</sup> NaCl stress. In H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration of 0.05% ~ 0.5%, the seed germination rate and germination potential of the three alfalfa varieties increased with the increase of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration, the concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 0.1% had the highest germination rate and germination potential of each type. AH, three alfalfa varieties of GN No. 3, and LB had the greatest germination rate and germination potential, its germination rate was 90%, 98%, 95%, germination potential was 72%, 94% and 86%, respectively. When the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration was more than 0.5%, the alfalfa seed germination rate and germination potential were inhibited under salt stress; When the concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ranged 0.1%~0.5%, it could effectively alleviate the damage caused by salt stress and could promote seed germination.

**Key words:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; Salt stress; Alfalfa

收稿日期: 2021-02-03 修回日期: 2021-03-12

第一作者简介: 付咪 (1989-), 女, 陕西榆林人。研究方向: 植物保护与生态学。

苜蓿 (*Medicago sativa* Linn), 多年生草本植物, 与三叶草外形相似, 耐旱力强、耐冷热, 在改良土壤方面有很好的作用<sup>[1]</sup>。土地盐渍化会造成苜蓿出苗不齐或者幼苗长势较弱。我国盐渍土面积范围较广, 盐胁迫会一定程度威胁到植物细胞的正常代谢过程<sup>[2]</sup>, 对植物种子萌发有一定影响。

在盐胁迫的影响下, 植物的生长都会不同程度的受到限制, 不同作物的耐盐性有一定的差异, 宋莉璐等<sup>[3]</sup>的研究表明随着盐浓度的提高对苜蓿胁迫力越强, 其中, 当盐浓度达到 1.8% 时, 是完全抑制苜蓿种子萌发的; 韩冰等<sup>[4]</sup>研究表明, 1.2% 盐浓度为黄瓜幼苗生长的极限盐浓度。有研究发现一些外源物, 如外源赤霉素 ( $GA_3$ )、外源褪黑素 (MT)、外源水杨酸、外源一氧化氮等物质对盐胁迫均有一定的缓解作用。其中, 李萍等<sup>[5]</sup>研究了外源  $GA_3$  对盐胁迫下盐角草 (*Salicornia europaea*) 种子萌发和幼苗生长的影响, 发现了在一定浓度范围内, 外源  $GA_3$  能缓解盐胁迫对盐角草种子萌发及幼苗生长的抑制作用; 倪知游等<sup>[6]</sup>研究了外源 MT 对猕猴桃 (*Actinidia Chinensis*) 幼苗盐胁迫的缓解, 发现了外源 MT 可有效缓解盐胁迫对猕猴桃幼苗的伤害, 以  $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MT 溶液预处理效果最好; 逯亚玲等<sup>[7]</sup>研究了外源水杨酸对盐胁迫下紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 幼苗生长和生理特性的影响, 发现了适宜浓度水杨酸可以改善不同浓度 NaCl 胁迫下紫花苜蓿的生长状况, 提高其耐盐能力; 谷文英等<sup>[8]</sup>研究了外源 NO 对盐胁迫下菊苣 (*Cichorium intybus*) 芽苗生长的影响, 发现了外源 NO 对盐胁迫抑制菊苣芽苗生长有一定的缓解作用。近年来, 外源  $H_2O_2$  在提高植物发

芽率、发芽势叶绿素含量等方面的研究也日益增多,  $H_2O_2$  作为植物体内的一种活性氧, 广泛参与植物多种生命活动过程。 $H_2O_2$  对盐胁迫下苜蓿种子萌发和幼苗生长方面还未曾有研究成果, 霍平慧等<sup>[9]</sup>研究表明  $100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 对苜蓿种子萌发和幼苗生长均有抑制作用。

试验以敖汉 (AH)、甘农三号 (GN3 号)、劳勃 (LB) 三个品种苜蓿为研究对象, 研究不同浓度  $H_2O_2$  浸种处理对  $100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 模拟盐胁迫下的苜蓿种子萌发和幼苗生长的影响, 以筛选出  $H_2O_2$  浸种浓度, 提高植物抗盐能力, 为苜蓿种植提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试种子为甘农三号苜蓿种子 (GN3 号)、劳勃苜蓿种子 (LB)、敖汉苜蓿种子 (AH)。

### 1.2 试验方法

萌发前先进行种子预处理, 处理方法与孙耀中等<sup>[10]</sup>对小麦萌发期处理相似, 先进行种子预处理, 种子先用蒸馏水清洗干净并浸泡 1 h, 再用 0.1% 的  $HgCl_2$  溶液消毒 5 min, 冲洗三次后用滤纸吸干备用。准备直径 9 cm 的培养皿清洗干净且烘干后, 在每个培养皿中铺设两层滤纸, 各用 5 mL 对应处理液润湿, 处理液如表 1; 每处理均放苜蓿种子 50 粒, 3 次重复; 然后将处理好的种子放入培养箱中培养, 温度  $25^\circ\text{C}$ , 光照 10 h, 黑暗 14 h, 每 24 h 观察一次。有种子发芽时开始计数 (芽长超过种子长度一半即为发芽标准); 10 d 后统计计算苜蓿种子的发芽率 (GR)、发芽势 (GE)。

表 1 萌发期和苗期处理

处理	过氧化氢浓度/%	Nacl 浓度/( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	处理方法
CK <sub>1</sub>	0.00	0	蒸馏水处理
CK <sub>2</sub>	0.00	100	$100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Nacl 处理
T1	0.05	100	$100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Nacl 和 0.05% $H_2O_2$
T2	0.10	100	$100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Nacl 和 0.1% $H_2O_2$
T3	0.50	100	$100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Nacl 和 0.5% $H_2O_2$
T4	1.00	100	$100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Nacl 和 1% $H_2O_2$
T5	2.00	100	$100 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Nacl 和 2% $H_2O_2$

### 1.3 测定项目及方法

发芽率(GR)=7 d内种子发芽总数/供试种子数×100%

发芽势(GE)=3 d内种子发芽总数/供试种子数×100%

### 1.4 数据统计与分析

数据分析处理和制图均采用 Microsoft Excel2010。

## 2 结果与分析

### 2.1 过氧化氢对盐胁迫下苜蓿种子发芽率的影响

如图 1,与未经盐胁迫(CK<sub>1</sub>)相比,盐胁迫(CK<sub>2</sub>)下,三个品种苜蓿种子的发芽率均显著下降,AH、GN3号、LB三种苜蓿种子发芽率分别下降了12%、12%、14%;随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的升高,三个品种苜蓿种子的发芽势均呈现出先增后减的趋

势。AH苜蓿发芽率在T2处理下达到最大值,为95%,显著高于CK<sub>2</sub>,与CK<sub>2</sub>相比增长了13%。当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度超过0.1%时,发芽率开始呈现出下降趋势,在T5处理下AH种子发芽率最低,为34%,显著低于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>降低了48%;GN3号苜蓿发芽率在T2处理下达到最大值,为98%,显著高于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>增长了10%;当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度超过0.5%时,发芽率开始呈现出下降趋势,在T5处理下AH种子发芽率最低,为48%,显著低于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>降低了40%;LB苜蓿发芽率在T2处理下达到最大值,为90%,显著高于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>增长了14%;当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度超过0.1%时,发芽率开始呈现出下降趋势,在T5处理下AH种子发芽率最低,为40%,同比T4处理下降了32%,显著低于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>降低了36%。

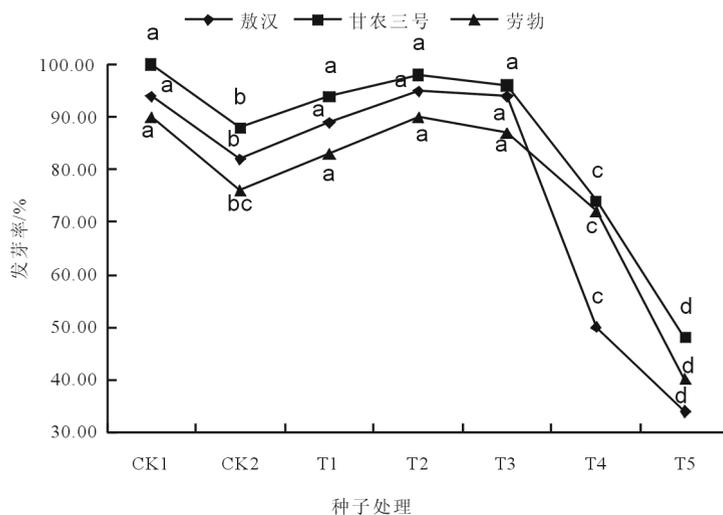


图 1 过氧化氢对盐胁迫下苜蓿种子发芽率的影响

### 2.2 过氧化氢对盐胁迫下苜蓿种子发芽势的影响

图 2 表示,与未经盐胁迫(CK<sub>1</sub>)相比,盐胁迫(CK<sub>2</sub>)下,AH、GN3号、LB三种苜蓿种子发芽势均明显下降,显著低于CK<sub>1</sub>,与CK<sub>1</sub>相比均下降了10%、10%、14%;与盐胁迫(CK<sub>2</sub>)相比,各H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下三种苜蓿种子发芽势存在明显的差异,随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的升高,三个品种苜蓿种子的发芽势均呈现出先增后减的趋势。AH苜蓿发芽势在T2处理下达到最高,为86%,显著高于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>增长了12%,用浓度超过0.1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理时,发芽势开始呈现出下降趋势,在T5处理下发

芽势最低,低至14%,显著低于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>下降了60%;GN3号苜蓿发芽势在T2处理下达到最高,为94%,显著高于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>增长了14%,当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度超过0.5%时,发芽势开始呈现出下降趋势,在T5处理下发芽势最低,为12%,显著低于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>下降了72%;LB苜蓿发芽势在T2处理下达到最高,为72%,显著高于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>增长了16%,但是,当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度超过0.05%时,发芽势开始呈现出下降趋势,在T5处理下发芽势最低,低至20%,显著低于CK<sub>2</sub>,相比CK<sub>2</sub>下降了36%。

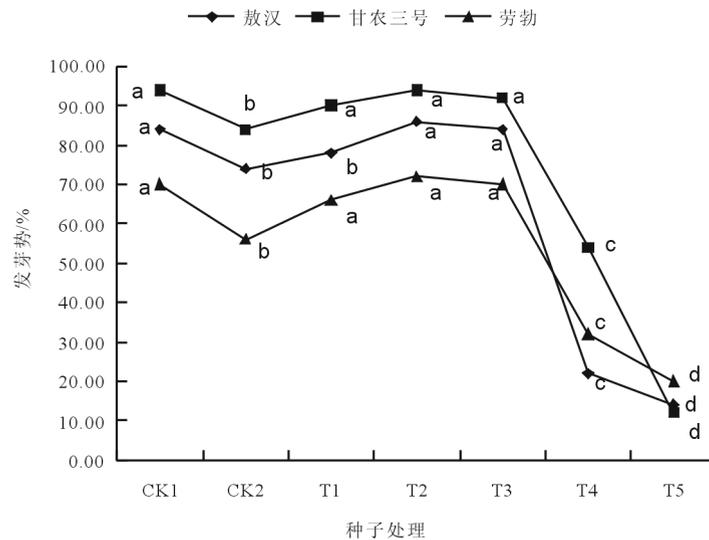


图 2 过氧化氢对盐胁迫下苜蓿种子发芽势的影响

### 3 结论与讨论

盐胁迫下,三个品种苜蓿种子的发芽率和发芽势均降低,说明盐胁迫对苜蓿的生命力和出苗速度均有不良影响。笔者研究表明,0.1%~0.5%的 $H_2O_2$ 处理,会有效提高盐胁迫下苜蓿种子的发芽率和发芽势,当 $H_2O_2$ 浓度超过0.5%时,其发芽率和发芽势均会随着 $H_2O_2$ 浓度的升高而降低,说明适宜浓度的 $H_2O_2$ 会缓解盐胁迫下苜蓿种子的萌发,这与王艳玲等<sup>[11]</sup>对水稻(*Oryza sativa*, *Oryza glaberrima*)的研究结果相似。在 $100\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl胁迫下,植物细胞内自由基产生和清理的稳定受到威胁,自由基过量会对使细胞膜过氧化,膜脂过氧化产物中就有MDA,其含量的高低可以作为考察细胞受胁迫严重程度的指标之一,它的主要伤害是导致膜脂过氧化,损伤生物膜结构,主要是细胞质膜,使得细胞膜结构和功能上受到损伤,改变膜的通透性,从而影响一系列生理生化反应的正常进行。笔者研究表明,在浓度为0.1%的 $H_2O_2$ 处理下,明显降低苜蓿叶片中MDA的含量,降低细胞膜过氧化的程度,维护膜系统的稳定性,提高苜蓿幼苗的耐盐力,这与徐芬芬等<sup>[6]</sup>对水稻(*Oryza sativa*, *Oryza glaberrima*)的研究结果相似。可见,对盐胁迫下植物喷施适宜浓度的 $H_2O_2$ 能够促进植物种子萌发和幼苗生长,提高耐盐力,提高了种子发芽率和发芽势。适宜的 $H_2O_2$ 浓度,会有效缓解盐胁迫下苜蓿种子的萌发,其中,浓度为0.1%的 $H_2O_2$ 处理下,AH、GN三号、LB三个品种苜蓿发芽率和发芽势均最大,发芽率分别为90%、98%、95%,发芽势分别为72%、94%、86%,当 $H_2O_2$ 浓度超过0.5%时,三个品种苜蓿发芽率和发芽势均低于盐胁迫下。

### 参 考 文 献:

- [1] 闫艳,崔文艺,李大红,等.紫花苜蓿DREB1基因的原核表达与蛋白纯化[J].生态科学,2014,33(04):759-763.
- [2] 王宁,李云霞,张以民,等.基于文献计量分析我国大豆耐盐研究现状[J].大豆科学,2013,32(05):708-710.
- [3] 宋莉璐,张侠,任艳,等.盐胁迫对苜蓿种子萌发和幼苗生长的影响[J].现代农业科技,2008,(16):21-24.
- [4] 韩冰,徐刚,郭世荣,等.不同浓度盐胁迫对黄瓜幼苗生长和生理代谢的影响[J].江苏农业学报,2014,30(01):172-177.
- [5] 李萍,华春,周泉澄,等.外源赤霉素对盐胁迫下盐角草种子萌发及幼苗生长的影响[J].安徽农业科学,2011,39(09):5119-5121+5237.
- [6] 倪知游,夏惠,高帆,等.外源褪黑素对猕猴桃幼苗盐胁迫的缓解作用[J].四川农业大学学报,2017,35(04):535-539.
- [7] 逯亚玲,王灵婧,王宁,等.外源水杨酸对NaCl胁迫下紫花苜蓿幼苗生长和生理特性的影响[J].草地学报,2017,25(06):1265-1273.
- [8] 谷文英,钱泽,薛洋,等.外源一氧化氮对盐胁迫下菊苣种子萌发和芽苗生长的影响[J].江苏农业科学,2013,41(03):174-176.
- [9] 霍平慧,李剑峰,师尚礼,等.盐胁迫对超干处理苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响[J].草原与草坪,2011,31(01):13-18.
- [10] 孙耀中,常连生.过氧化氢对小麦种子萌发和幼苗生长的影响[J].河北农业技术师范学院学报,1994(03):30-35.
- [11] 王艳玲,任艳芳,林肖,等.不同浓度 $H_2O_2$ 处理对水稻陈种子活力及幼苗生理特性的影响[J].江苏农业科学,2017,45(13):49-53.